Lane Medical Library

Die säurebildenden Streptokokken der Mundhöhle und die Streptokokken in kariösen Zähnen

sowie ihre systematische Stellung:

a) zu den Milchsäure-Streptokokken
b) zu dem Streptococcus salivarius
c) zu dem Enterococcus.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Würde eines Doktors der Zahnheilkunde

einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Georg August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von

CURT ROSENMEYER,
approb. Zahnarzt.

Göttingen 1925.
Druck der Dieterich'schen Universitäts-Buchdruckerei (W. Fr. Kaestner).

Referent: Prof. Dr. Rosenthal.
Korreferent: Geh. Rat Prof. Dr. Reichenbach.

Tag der mündlichen Prüfung: 29. 1. 1925.

Literaturangabe.

Baumgartner: Die Zahnkaries, eine Streptomykose. Wiener klin. Wochenschrift, 1913, Nr. 5.

Brailowsky-Lounkewitch: Contribution à l'étude de la flore microbienne de la bouche normale. Annales de l'institut Pasteur, 1915.

Escherich: Streptokokkenenteritis im Säuglingsalter. Jahrb. f. Kinderheilk., 1899, Bd. XI.

Goadby: cit. nach Hilgers. Zentralbl. f. Bakteriologie, Abt. I, Orig. 93, 1924, S. 249.

Grotenfendt: Fortschritte der Medizin, 7, 124, 1889.

Günther u. Thierfelder: Archiv für Hygiene, 25, 164.

Heim: 1. Milchsäure- und andere Streptokokken. Zeitschr. f. Hygiene, 101, Bd. I.

2. Diskussion zu dem Referat von Hilgers, vorgetr. auf dem Mikrobiologen-Kongreß 1924, Göttingen. Zentralbl. f. Bakt. Abt. I, Orig. 93, 1924, S. 249.

Hilgers: Bacillus necrodentalis Goadby. Referat s. oben.

Hilgers: Die Streptokokken der Zahnkaries. Deutsche Monatschr. f. Zahnheilkunde, 1921, H. 12.

Kruse: 1. Das Verhältnis der Milchsäurebakterien zum Streptococcus lanceolatus, Enterococcus usw. Zentralbl. f. Bakt., Abtl. 1, Original 34, 1903, S. 737.

2. Allgemeine Mikrobiologie. Leipzig 1910, F. C. W. Vogel.

3. Untersuchungen über den Diplococcus pneumoniae und verwandte Streptokokken. Zeitschr. f. Hygiene, 1892, Bd. XI.

Lehmann-Neumann: Atlas und Grundriß der Bakteriologie, Teil II, Text. Verlag J. F. Lehmann, München, 1920.

Miller: Die Mikroorganismen der Mundhöhle. Leipzig 1892, Verlag Georg Thieme.

Ocaki: Die Anaerobier der Mundhöhle. Zentralbl. f. Bakteriol., Abt. 1, 62, 1912.

Puppel: Über Streptokokken in der Milch und im Säuglingsstuhl. Zeitschrift für Hygiene, Bd. 70, 1912, S. 479.

Sperling: Der Streptococcus lacticus in seiner Beziehung zur Zahnkaries. Deutsche Monatschr. f. Zahnheilkunde, 1922, Heft 5.

Tissier: Recherches sur la flore intestinale des nourissons. Paris 1900. cit. nach Puppel.

Veillon: Recherches sur l'étiologie de la pathogénie des angines non diphtheriques. Archives de méd. expérimentale, 1894, t. 6.

In der gesamten bakteriologischen Literatur herrscht, soweit es sich um die Streptokokken handelt, eine große Unsicherheit. Im Klaren ist man sich wohl bisher nur über die typischen Eitererreger, den Streptococcus pyogenes haemolyticus. Die Häufigkeit des Vorkommens von Streptokokken im menschlichen Organismus läßt eine genaue Prüfung und einen Vergleich mit den bisher schon beschriebenen Arten erforderlich erscheinen. Die Streptokokken, die als Parasiten, Gärungserreger und harmlose Saprophyten beobachtet wurden, sind kulturell und morphologisch schwer zu unterscheiden. Der Tierversuch und die Haemolyse, die für andere Bakterienarten häufig die beste Unterscheidungsmöglichkeit bieten, sind für Streptokokkenuntersuchungen nicht in diesem Sinne verwendbar. Man unterscheidet heute:

den Streptococcus pyogenes haemol.
den Streptococcus lanceolatus = „Pneumoniecoccus“
den Streptococcus lacticus
den Streptococcus mucosus.

Was ihr kulturelles Wachstum anbetrifft, gedeihen sie am besten in flüssigem Nährsubstrat, so daß bei den Untersuchungen, wie ich es auch regelmäßig getan habe, eine Einsaat des Ausgangsmaterials in Nährbouillon erforderlich ist. Von den festen Nährböden bewährt sich die Agarplatte besser als die Gelatineplatte. Ist an sich schon für verschiedene Streptokokkenarten Körpertemperatur notwendig, so ist zur Unterscheidung des Koloniewachstums die Gelatineplatte, auf der die Kolonien nur sehr klein auftreten, nicht verwendbar. Auf der Agarplatte bilden sich kleine, graue Kolonien von ungefähr $^1/_2$ mm Durchmesser. Ihrem Verhalten zum Luftsauerstoff nach

zählen sie zu den fakultativen Anaerobiern, doch sind auch, wenn auch selten, obligate Anaerobier beobachtet worden. Die Zuckervergärung kommt sämtlichen Streptokokken zu, doch sind Unterschiede in der Quantität feststellbar. Der Streptococcus pyogenes bildet am wenigsten, der Streptococcus lacticus am meisten Säure.

Schon lange ist bekannt, daß die Mundhöhle, die Eingangspforte und der Sammelpunkt der verschiedensten Arten pathogener und nichtpathogener Bakterien, auch eine Hauptfundstätte für Streptokokken ist. Bei der Untersuchung der Mundhöhle ging ich aus

1. von der freien Mundhöhle,
2. vom Zahnbelag,
3. vom kariösen Dentin.

Miller, dem wir die erste gründliche Untersuchung der Mundhöhlenflora verdanken, beobachtete schon das regelmässige Vorkommen von Kokken in der Mundhöhle. Von 30 von ihm aus der Mundhöhle isolierten Bakterien traten 18 in Kokkenform auf. Folgende nichtpathogene Kettenkokken wurden von ihm beschrieben: Ascococcus buccalis und Micrococcus nexifer. Letztere bilden kurze Ketten mit teils runden, teils auch ovalen Einzelgliedern.

Eigene Beobachtungen: Ein nach Gram gefärbtes Speichelpräparat zeigt zwischen Epithelzellen zahlreiche grampositive Diplokokken und kurze Ketten. Bei Aussaat einer aus dem Gaumenbelag zur Anreicherung der in ihm enthaltenen Streptokokken angelegten Bouillonkultur auf 2%igem Traubenzuckeragar entwickeln sich innerhalb 24 Stunden bei Bruttemperatur überwiegend feine, zarte, bläulichweiß schimmernde Kolonien. Bei schwacher Vergrösserung erscheinen sie kreisrund, mit scharf lichtbrechendem Rand, klein gekörnt, in der Randzone durchsichtig, im Zentrum undurchsichtig braun. Ihre Konsistenz ist weich, sie sind leicht abimpfbar. Die nach Gram gefärbten, von der Agarplatte entnommenen Ausstrichpräparate hatten folgendes morphologisches Bild:

Diplokokken und kurze Ketten zu drei Paaren, die immer deutlich die Diplokokkenform erkennen ließen. Die Größe des einzelnen Kokkengliedes schwankt zwischen 0,5 und 1 μ. Die Kokken waren nicht immer kreisrund, sondern häufig oval. Typische Lanzettformen habe ich nur selten beobachtet. Kapselbildung war nicht festzustellen. Bei allen, aus frischen Kulturen hergestellten Präparaten waren die Streptokokken grampositiv. Auch bei starker Entfärbung mit Acetonalkohol behielten sie die Gramfarbe bei. Nach dem Verfahren von Günther und Thierfelder setzte ich dem Traubenzucker-Agar eine $2^1/_2$ % ige sterilisierte Schlemmkreideaufschwemmung zu. Der helle Hof, der sich um die Kolonien entwickelte, war ein Zeichen dafür, daß die von den Bakterien gebildete Säure durch die Schlemmkreide neutralisiert war. Ferner erschien mir als sehr geeignet zur Gewinnung von Reinkulturen der von Heim angegebene Zusatz von 15 % Lacmus-Tinktur zum Agar. Bis zum nächsten Tage waren bei Brutttemperatur kleine Kolonien auf lacmusrotem Grunde gewachsen, die ebenso wie schon oben angegeben, eine hellere Randzone und ein dichter granuliertes Zentrum erkennen ließen. Auf Gelatine entwickeln sich die Kolonien als ganz kleine, weiße Punkte, die erst nach 8—14 tägigem Wachstum die Größe der auf Agar sich innerhalb 24 Stunden entwickelnden Kolonien erreichten. Die Gelatine wurde niemals verflüssigt. Die Bouillon — ich benutzte regelmäßig 1 % ige Traubenzuckerbouillon — zeigte nach 24 Stunden leichte Trübung und geringen Bodensatz, der sich beim Schütteln löste.

Auf Ascites-Agar überimpft, war gutes Wachstum feststellbar; der Nährboden wurde nicht getrübt. Mikroskopisch betrachtet dasselbe Bild wie auf Traubenzucker-Agar.

In Agarstich-Kulturen bildeten sich kleine kugelförmige Kolonien.

Im Gelatine-Stich nach 8—14 Tagen kleine weiße Kolonien, keine Verflüssigung. Von beiden waren nach 14 Tagen die Kulturen noch lebenskräftig. Milch begann nach 24 Stunden zu gerinnen.

Von 25 aus der Mundhöhle gezüchteten Reinkulturen dieser Streptokokkenart prüfte ich 10 auf ihr Säurebildungsvermögen. Ich überimpfte von jedem Stamm in 10 ccm Traubenzuckerbouillon und hielt diese im Brutschrank bei 37°. Die nach 8 Tagen gebildete Säuremenge entsprach im Durchschnitt 6 ccm n/10 Lauge (genau 5,85). Als Indikator benutzte ich Phenolphthalein (siehe Tabelle).

Außer diesen kurzen Streptokokken fand ich häufig, besonders bei Entnahme des Untersuchungsmaterials von den Mandeln, den Streptococcus longissimus haemolyticus. Sein kulturelles Wachstum auf festem Nährboden ließ häufig schon einen Unterschied von dem oben beschriebenen Streptococcus erkennen. Die Kolonien zeigten bei schwacher Vergrößerung eine deutlich maschenförmige Struktur und nicht scharf abgesetzten Rand. Die Bouillon blieb klar, der Bodensatz war flockig. Morphologisch stellten sie sich als sehr lange Ketten mit vollständig runden Einzelgliedern dar. Ovale oder lanzettförmige Kokken, wie oben beschrieben, zeigten sich hier nicht. Ihr Gramverhalten ist im allgemeinen positiv, jedoch beobachtete ich innerhalb derselben Kette häufig gramnegative Kokkenglieder neben grampositiven. Das Säurebildungsvermögen dieses Streptokokken ist bedeutend schwächer als das des oben beschriebenen. Milch gerinnt erst bedeutend später oder überhaupt nicht.

Die anaerobe Züchtungsmethode ergab kein anderes Resultat.

Außer der Untersuchung der freien Mundhöhle stellte ich solche vom Zahnbelag an. Ich entnahm den Zahnbelag mit der Platinnadel aus den Zahnfleischtaschen des Interdentalraums. Um festzustellen, ob ich es mit echtem Zahnbelag zu tun hatte, färbte ich mit der kolloidalen

Farbmischung nach Eisenberg. Befanden sich in dem Präparat der Bacillus buccalis maximus, Spirochäten und der von Prelle beschriebene, bandförmige Bacillus, so hatte ich echten Zahnbelag entnommen. Schon bei dieser negativen Eisenbergschen Färbmethode waren kurze Kokken-Ketten, Diplococcen und kleine Kokkenhaufen zu erkennen. Zur Anreicherung bediente ich mich auch hier wieder der 1 %igen Traubenzuckerbouillon. Nach eintägigem Wachstum waren massenweise Streptokokken und zwar der verschiedensten Form gewachsen. Lange Ketten kleinster Kokken, zahlreiche Diplococcen und kurze Ketten mit zum Teil ovalen Gliedern und kleine gramnegative Kokken in Haufen.

Bei Überimpfung auf Agarplatten wuchsen nur sehr kleine Kolonien an und zwar recht spärlich. Ich bediente mich deshalb der anaerobiotischen Züchtungsmethode, indem ich die Platten in ein Einmacheglas mit Pyrogallol stellte und evakuierte. Nach 48 Stunden war reichliches Wachstum zu erkennen. Bei schwacher Vergrößerung ergaben die Kolonien dasselbe Bild wie die von der Mundschleimhaut gezüchteten. Kreisrund, fein granuliert mit lichtbrechendem Rand und dichterem Zentrum. Im Färbpräparat zeigten sich

1. grampositive Diplococcen und kurze Ketten mit teils runden, teils ovalen Einzelgliedern;
2. sehr lange Streptokokken-Ketten durch mehrere Gesichtsfelder vom Typ des Streptococcus pyogenes longissimus;
3. sehr häufig den Streptococcus pyogenes brevis, die kurzen Ketten waren häufig kranzförmig gelagert;
4. kleine gramnegative Staphylococcen, die schon von Ocaki beschrieben wurden.

Das Säurebildungsvermögen der Streptokokken in kurzen Ketten entspricht dem aus der freien Mundhöhle gezüchteten Streptococcus.

Man steht schon lange auf dem Standpunkt, daß Bakterien durch die Schmelzsprünge der Zähne in die Dentinkanälchen gelangen und dort durch ihre Säurebildung das Dentin zur Auflösung bringen, d. h. die Zahnkaries verursachen.

Es liegt deshalb nahe, die Streptokokken der Mundhöhle und des Zahnbelags mit den Bakterien aus dem kariösen Dentin zu vergleichen.

Miller gebührt auch hier das Verdienst, als erster durch bakteriologische Untersuchungen Bakterien verschiedenster Art aus kariösen Zähnen gezüchtet und mikroskopisch untersucht zu haben.

Seitdem ist die chemisch-parasitäre Theorie von der Zahnkaries gegenüber der vorher herrschenden Ansicht von der rein chemischen Ursache anerkannt. Allerdings beschrieb Miller noch im Jahre 1892 zehn verschiedene Arten von Karieserregern.

Sieberth war der Erste, der aus dem erweichten Dentin Streptokokken züchtete.

Baumgartner konnte Streptokokken auch in den tiefsten Schichten des kariösen Dentins und dem darunter liegenden gesunden Dentin feststellen; er war auch der Erste, der die Karies als eine Folge der Streptokokkeninfektion ansah.

Über die systematische Stellung dieser im kariösen Dentin vorkommenden Streptokokken ist man sich heute noch nicht voll im Klaren.

Kruse identifizierte sie mit dem von ihm gefundenen Streptococcus lacticus. Diese Ansicht war auch bisher die vorherrschende.

Hilgers beobachtete bei seinen Versuchen, daß durchweg bei den kurz nach der Extraktion untersuchten Zähnen nur die ganz feinen zarten Kolonien des Streptococcus pyogenes auftraten und daß in der Bouillon deutlich lange Ketten von typisch runden Einzelgliedern, die zum Teil

Staketform hatten, gebildet wurden, während erst in Zähnen, die nach mehreren Tagen nach der Extraktion untersucht wurden, neben den langen Ketten auch die Form des, Streptococcus lacticus erschien, deren Einzelglieder gestreckt waren und die zuweilen Neigung zur Fadenbildung zeigten.

Er hält diese Abgrenzung aber selbst nicht für unbedingt erwiesen, da es sich eventuell um Variationen des Streptococcus lacticus handeln könnte. Ich verfuhr bei meinen Untersuchungen nach den Angaben von Sperling. Die Zähne wurden gereinigt, alles erweichte und verfärbte Dentin mit sterilen Exkavatoren entfernt, die Kavität mit Alkohol gereinigt und dann mit neuen sterilen Bohrern ausgebohrt. Eine kleine Menge des Bohrstaubs fing ich in 1 %iger Traubenzuckerbouillon auf. Nach eintägigem Wachstum wurde auf Traubenzuckeragar überimpft. Nach 48 Stunden waren die verschiedenartigsten Kolonien auf den Platten gewachsen. Bei 20 untersuchten Zähnen fand ich regelmäßig Streptokokken. 5 mal gramnegative Stäbchen, 3 mal Staphylokokken und 3 mal grampositive Stäbchen.

Um Reinkulturen zu erhalten, wurden nach mikroskopischer Untersuchung und Färbpräparaten ausgewählte Kolonien wiederholte Male über Traubenzucker Agar geschickt. Das Wachstum der Kolonien war recht spärlich, weshalb ich auch hier wieder die anaerobiotische Züchtungsmethode benutzte. Auf den Platten der ersten Verdünnung waren schon Streptokokken in großer Mehrzahl. Das Koloniewachstum, bei schwacher Vergrößerung beobachtet, ließ wieder von den aus der Mundhöhle beschriebenen Streptokokken keine wesentlichen Unterschiede erkennen. Nach dem Koloniewachstum auf Traubenzuckeragar einen Unterschied zwischen dem Pyogenes- und Lacticustyp festzustellen, ist mir nicht gelungen, wie überhaupt das Bild der Kolonien je nach Beschaffenheit des Nährbodens dauernd um ein Geringes wechselt.

Mikroskopisches Bild.

Bei den aus dem Bohrstaub frischextrahierter Zähne gezüchteten Streptokokkenstämmen beobachtete ich ebenso wie Hilgers in den Bouillonkulturen häufig längere Ketten.

Die einzelnen Glieder der Ketten zeigten aber nicht regelmäßig runde Einzelglieder. Staketformen konnte ich niemals feststellen. Vielmehr fand ich bei 3 frisch extrahierten Zähnen im Färbpräparat aus der Bouillonkultur innerhalb derselben Kette Übergänge von fast stäbchenförmigen bis zu völlig runden Gliedern. Auffällig war auch das häufige Vorkommen von Tetraden innerhalb der Kette*). Sämtliche Kettenglieder waren gleichmäßig gefärbt. Die Größe der Kokken betrug im Durchschnitt $^1/_2$ μ. Die Färbpräparate, die aus Plattenkolonien hergestellt wurden, ergaben nur kurze grampositive Ketten und Diplokokken. Lange Ketten waren vollständig verschwunden. Während Sperling schon die Umformung von ovalen und deutlich zugespitzten Kokken in runde beobachtete, konnte ich auch den umgekehrten Prozeß feststellen.

Im Folgenden kurz das Wachstum dieser Streptokokkenart auf den verschiedenen Nährböden.

Gelatineplatte. Nach einigen Tagen spärliches Wachstum von kleinsten Kolonien. Keine Verflüssigung.

Gelatinestichkulturen. Kleine weiße kugelige Kolonien. Keine Verflüssigung.

Traubenzucker-Agar-Stich-Kulturen. Gutes Wachstum, längs des Stichs in kugeligen Kolonien.

Ascites Agarplatte nach 24 Stunden reichliches Wachstum gemäß dem auf der Traubenzucker-Agarplatte. Keine Trübung des Nährbodens.

Traubenzuckerbouillon. Nach 24 Stunden leicht getrübt. Reichlicher Bodensatz.

*) Da die außerhalb der Kette liegenden Kokken sich in Größe und Form nicht im geringsten von den übrigen unterscheiden, kann man sich das Bild nur so erklären, daß die Kokken bei der Spaltung aus der Kette gedrängt sind und so die Tetraden-Form enstanden ist.

Milch Nach 24 Stunden beginnende Gerinnung.

Die in 8 Tagen aus diesen Streptokokkenstämmen in Traubenzuckerbouillon gebildete Säure entsprach im Durchschnitt 5 ccm n/10 Lauge (genau 4,9). (Siehe Tabelle).

Diese Ergebnisse sind die gleichen für die aus frisch extrahierten, wie für die aus länger bei Zimmertemperatur gelegenen Zähnen gezüchteten Streptokokken.

Das Verhalten zur Milch und das Säurebildungsvermögen ist das gleiche bei den längeren wie bei den kurzen Streptokokken des kariösen Dentins.

Neben den regelmäßig gefundenen Streptokokken wurden auch schon früher kleine grampositive säurebildende Bakterien in Stäbchenform beobachtet. Im Jahre 1899 fand Goadby neben dem Streptococcus brevis ein Stäbchen, das er Bacillus necrodentalis nannte.

Hilgers hat diese Formen von Bakterien neuerdings nochmals einer genauen Untersuchung unterzogen. Da er vermutete, daß es sich um einen den Bacillus acidophilus ähnlichen Typ handele, benutzte er das für diesen Typ übliche Kulturverfahren. Eine geringe Menge des Bohrstaubs aus den tiefsten Schichten des kariösen Dentins wurde in Traubenzuckerbouillon mit Zusatz von 1 % Essigsäure in hoher Schicht aufgefangen.

Nach 48 Stunden Wachstum bei Bruttemperatur überimpfte er auf Traubenzuckeragarplatten; bei anaerobem Wachstum bilden sich nach 48 Stunden neben den größeren Kolonien des Streptococcus lacticus ganz feine zarte Kolonien mit gewelltem Rand. Im mikroskopischen Bild zeigten sich kleine, feinste Stäbchen, zum Teil in kleinen Ketten gelagert. Dem Gramverhalten nach waren sie positiv. Heim beschrieb diesen Bazillus auch zum Unterschied von den Streptokokken des kariösen Dentins. Er fand ihn in 23 Zähnen achtmal. Sein Säurebildungsvermögen beträgt 7,2 ccm n/10 Lauge, ist also größer als das der Streptokokken.

Ich fand bei meinen Untersuchungen in 10 nach oben

angegebener Methode angelegten Kulturen diesen Bazillus dreimal neben den regelmäßig vorkommenden Streptokokken. Sein morphologisches und kulturelles Verhalten unterschied sich deutlich von dem der Streptokokken.

Nach diesen Untersuchungen über die in der freien Mundhöhle, im Zahnbelag und im kariösen Dentin vorkommenden Streptokokken ist erforderlich, ihre systematische Stellung zu den bisher bekannten Streptokokkenarten festzustellen. Wie schon oben erwähnt, hat Kruse als Erster die in der Mundhöhle und im Zahn vorkommenden Streptokokken in ein gewisses System gebracht. Er identifizierte die auf sämtlichen Schleimhäuten vorkommenden Streptokokken und später die Streptokokken des kariösen Dentins mit dem von ihm zuerst gefundenen Streptococcus lacticus, was bisher auch von allen Untersuchern anerkannt wurde. Auf Grund einer neuen Untersuchungsmethode für Streptokokken wird dieses von Heim bestritten. Es erscheint deshalb angebracht, zunächst einmal jeden von mir aus Mund und Zahn gezüchteten Streptokokkenstamm mit dem echten aus saurer Milch gezüchteten Streptococcus lacticus zu vergleichen. Ueber die Priorität, den Erreger der Milchsäuregärung gefunden und beschrieben zu haben, wird viel gestritten.

Nach Lehmann-Neumann hat Grotenfendt im Jahre 1889 als erster einen Streptococcus acidi lactici beschrieben. Nach ihm hat Günther eine in der Milch regelmäßig vorhandene Bakterienart beobachtet, der Lehmann und Neumann den Namen Bact. Güntheri gaben. Schon Escherich stellte das massenhafte Vorkommen von Streptokokken in Milch fest, zog jedoch manchen Trugschluß daraus, da er diese Streptokokken noch nicht als besondere Art erkannte, sondern mit dem Streptococcus pyogenes verwechselte.

Kruse bezeichnete seinen Streptococcus lacticus als einen nahen Verwandten des Streptococcus lanceolatus = Pneumoniecoccus. „Seine Gestalt, seine Neigung, Ketten

zu bilden, seine färberischen Eigenschaften, sein Verhalten zu den Nährböden, auch zur Milch, ist im wesentlichen das Gleiche. Unterschiede liegen darin, daß der Streptococcus lacticus auch bei niedriger Temperatur wächst und, soweit bisher bekannt, bei Tieren oder Menschen keine Krankheiten verursacht". Ferner wies Kruse auch auf die nahe Verwandtschaft mit dem Streptococcus pyogenes hin. Uebergänge zwischen beiden Arten kämen häufig vor. So sind auch die häufigen Verwechslungen der Beobachter zu erklären.

Puppel hat die Milchstreptokokken einer nochmaligen Untersuchung unterzogen. Er stellte als die Haupteigenschaft der Milch-Streptokokken, ihre Variabilität in Größe und Form dar. Die Haemolyse, die er als Unterscheidungsmittel heranzog, ergab kein verwertbares Ergebnis.

Zu meinen Untersuchungen benutzte ich Milch, die bei 25° bis zum nächsten Tage sauer war. Als geeigneten Nährboden für die Reinzüchtung der Milchstreptokokken wurde auf Traubenzuckeragar mit Zusatz von 2 $^1/_2$ % steriler Schlemmkreide ausgesät. Die Sreptokokkenkolonien wuchsen schon bei 22°. Bei schwacher Vergrößerung waren sie kreisrund, mit lichtbrechendem Rand, klein gekörnt, im Zentrum undurchsichtig.

Das nach Gram gefärbte Präparat ergab rundliche und zum Teil ovale Glieder in Diplokokken oder kurzen Ketten. Typisch lanzettförmige Kokken habe ich bei meinen Untersuchungen nicht beobachten können. Jedoch war die Neigung zur Abflachung in der Kettenrichtung immer deutlich zu erkennen. Bei wiederholtem Umzüchten bildeten sich in Traubenzuckerbouillon lange Ketten mit typisch runden Einzelgliedern. Die Lagerung in Diplokokken war immer feststellbar. Nach Überimpfen auf festen Nährböden erhielt ich wieder Rückbildung in Diplokokken und kurze Ketten mit ovalen Gliedern.

Agarstich: Gutes Wachstum in kleinen grauen Kolonien.

Gelatinestich: Kleine Kolonien. Keine Verflüssigung.

Milch: Beginn der Gerinnung nach 24 Stunden.

Traubenzuckerbouillon: Nach 24 Stunden leicht getrübt; reichlicher Bodensatz.

Die Säurebildung aus Traubenzuckerbouillon entspricht 6,0 ccm n/10 Lauge (genau 6,1). (Siehe Tabelle)

Vergleichen wir diese kulturellen und morphologischen Eigenschaften des aus Milch gezüchteten Streptococcus lacticus mit den vorher beschriebenen Streptokokken der Mundhöhle und des kariösen Dentins, so decken sie sich in den wesentlichen Punkten. Man könnte also aus den bisher angeführten Kulturmethoden den Schluß ziehen, daß ich es mit Ausnahme der Fälle, die ich besonders als Streptococcus pyogenes haemolyticus bezeichnet habe, mit dem Streptococcus lacticus Kruse zu tun hatte. Die häufige Ähnlichkeit mit dem Streptococcus pyogenes ist aus der Variationsfähigkeit des Streptococcus lacticus zu erklären.

Heim stellte jedoch neuerdings durch Prüfung mit Lackmusmilch feinere Unterschiede zwischen den verschiedenen Streptokokkenarten fest. Er versetzt Milch mit 7%iger Lackmustinktur und sterilisiert dreiviertel Stunde bei 175°. Diese besät er mit einer 2 mm Normalöse einer Reinzucht von Milchsäurestreptokokken in Bouillon.

„Nach 7—17 stündiger Bebrütung wird die Lackmusmilch durch die von den Keimen gebildete Reduktase vollkommen elfenbeinweiß bis auf eine obere, schmale, bläuliche Zone. Hierauf beginnt eine Rötung unter der stets weiß bleibenden Rahmschicht aufzutreten. Unmittelbar unter der Rahmschicht sieht man oft einen schmalen Saum rötlicher Flüssigkeit. Die rosa Farbe der Milch, die anfänglich nur eine Breite von einigen Millimetern einnimmt, schreitet im Laufe der nächsten Tage langsam nach unten fort. Die Gerinnung setzt gewöhnlich mit dem Erscheinen der Rosafärbung ein. Maßgebend für die Erkennung des

Streptococcus lacticus ist, daß die blaugefärbte Lackmusmilch erst weiß wird, dann rot, nicht umgekehrt."

Auf diese Art prüfte Heim Streptokokken verschiedener Herkunft. Auf Grund der eben angegebenen Bedingung erkannte er als Streptococcus lacticus Streptokokken der Milch, der äußeren Haut, der Augenbindehaut und des Säuglingsstuhls. Streptokokken der Mundschleimhaut wurden von ihm nicht geprüft. Die von ihm aus kariösem Dentin gezüchteten Streptokokken ergaben sämtlich ein anderes Ergebnis. Zum Teil entfärbten sie die Lackmusmilch erst rot, dann weiß, zum Teil überhaupt nicht.

Ich untersuchte auf Grund der eben angeführten Methode meine aus der Mundhöhle und aus dem kariösen Dentin gezüchteten Stämme sowie einige Stämme von dem Streptococcus pyogenes und einen Streptokokkenstamm aus dem menschlichen Magen, die mir vom bakteriologischen Untersuchungsamt zur Verfügung gestellt wurden. Die von mir benutzte Milch stammte aus einem in der Stadt selbst gelegenen Gehöft und gilt als hygienisch besonders einwandfrei. Beim Sterilisieren veränderte sich die Farbe der Milch nicht. Nach 14 stündiger Bebrütung war die mit Reinzuchten von Milchsäurestreptokokken, der Mundschleimhaut, des kariösen Dentins und des Magens geimpfte Lackmusmilch sämtlich bis auf eine schmale, obere, bläuliche Zone elfenbeinweiß entfärbt, während sich die mit einer vom Streptococcus pyogenes haemolyticus besäte Lackmusmilch nicht verändert hatte. Ebenso war eine zur Kontrolle in den Brutschrank gestellte, unbeimpfte Lackmusmilchprobe unverändert geblieben. Nach 22 stündiger Bebrütung trat bei den elfenbein-weißgefärbten Proben ein schmaler rötlicher Saum unter der weißen Rahmschicht auf, das Zeichen der beginnenden Gerinnung.

Im Laufe der nächsten Tage setzte sich die rosa Färbung nach unten fort. Die unbeimpfte und die mit einer Reinzucht von Streptococcus pyogenes beimpfte Lackmusmilch blieb weiterhin unverändert.

Somit wären die von Heim für den Streptococcus lacticus aufgestellten Bedingungen auch für die von der Mundschleimhaut und aus dem kariösen Dentin gezüchteten Streptokokken erfüllt und diese Streptokokken als zur Art des Streptococcus lacticus gehörig zu betrachten.

In französischen Arbeiten über die Mundhöhlenflora wird regelmäßig ein Streptococcus salivarius genannt und als besonderer Streptokokkentyp angesehen. Nach Madame Brailowsky-Lounkevitch, die die Mundhöhle vom Menschen verschiedenen Lebensalters bakteriologisch untersuchte, gibt es bei Säuglingen nach dem ersten Lebensmonat keinen anderen konstanten Bakterientyp der Mundhöhle als den Streptococcus salivarius. Er zeige sich zuerst in der zehnten Stunde nach der Geburt, später wurde er gemeinsam mit dem Streptococcus pyogenes, dem Enterococcus und dem Pneumoniecoccus beobachtet. Eine nähere Beschreibung dieser Bakterien wird in der Arbeit nicht gegeben. Der Streptococcus salivarius wurde zuerst von Veillon 1894 beschrieben.

Er fand ihn bei einer Diphtherie-Untersuchung als regelmäßigen Schmarotzer auf der Rachenschleimhaut und betrachtete ihn wegen seiner besonderen morphologischen und kulturellen Eigenschaften als eine besondere Streptococcenart. „Man findet in der Mundhöhle in erster Linie, was Menge und Regelmäßigkeit anbetrifft, einen Streptococcus mit folgenden Merkmalen:

Agarplattenkultur: feine, bläulich-weiße transparente Kolonien.

Gelatineplattenkultur: kleine weiße punktartige Kolonien. Keine Verflüssigung.

Bouillon: leicht getrübt, flockiger Bodensatz. Der Streptokokkus ist niemals pathogen.

Mikroskopisches Bild: grampositive Diplokokken und kurze Ketten. Die einzelnen Glieder ein und derselben Kette sind in Form und Größe untereinander verschieden; neben ganz runden Gliedern kommen häufig ovale vor.

Die Unregelmäßigkeit ist deutlicher als beim Streptococcus pyogenes."

Schon diese Angaben dürften genügen, um die völlige Übereinstimmung des Streptococcus salivarius mit den von mir aus Milch, Mundhöhle und kariösem Dentin gezüchteten und beschriebenen Streptokokken erkennen zu lassen. Der Streptococcus salivarius ist also als Streptococcus lacticus anzusprechen.

Neben dem Streptococcus salivarius beobachtete Brailowsky-Lounkevitch den Enterococcus in der Mundhöhle.

Das häufige Vorkommen von Streptokokken im Darm wurde schon 1886 von Escherich bei Untersuchungen des Säuglingsstuhls festgestellt. Er nannte diesen Kokkus Micrococcus ovalis.

Tissier und Thiercelin nannten ihn Enterococcus.

Kruse, der auch bei Darmuntersuchungen regelmäßig Streptokokken fand, identifizierte den Enterococcus mit dem Streptococcus lacticus.

Puppel kam bei eingehenden Untersuchungen der Streptokokken des Säuglingsstuhls zu folgendem Ergebnis:

Streptokokken sind regelmäßige Darmbewohner und verhalten sich in allen Beziehungen sehr ähnlich wie gewöhnliche Milchstreptokokken. Sie treten auf in Diplokokken und kurzen Ketten mit runden, ovalen und lanzettförmigen Gliedern. Ihr Wachstum auf künstlichem Nährboden, auch ihr Grad der Säurebildung entspricht dem der Milchstreptokokken. Die Untersuchung von Heim mit Lackmusmilch gaben für Streptokokken aus dem Stuhl auch die Umfärbung zunächst in weiß und dann in so rot, daß man den Enterococcus auch als zur Art des Streptococcus lacticus gehörig betrachten kann.

Schlußfolgerung.

I. Säurebildende Streptokokken sind regelmäßig auf der Mundschleimhaut im Zahnbelag und im kariösen Dentin zu finden.

II. Sie verhalten sich morphologisch, tinktoriell, kulturell, im Verhalten zu Lackmusmilch sowie dem Grad der Säurebildung nach ebenso wie die säurebildenden Streptokokken der Milch. Sie gehören deshalb systematisch zu dem Streptococcus lacticus. *)

III. Der in der französischen Literatur als besondere Art genannte Streptococcus salivarius der Mundschleimhaut, sowie der Enterococcus des Darms ist gleich dem Streptococcus lacticus.

Folgende Bakterien sind also identisch:

Streptococcus acidi lactici Grotenfendt = Bact. Güntheri = Strept. lact. Kruse = Micrococcus ovalis Escherich = Enterococcus Thiercelin = Streptococcus salivarius Veillon.

IV. Der Streptococcus lacticus ist der Haupterreger der Caries. Neben ihm findet man in den untersten Schichten des cariösen Dentins den Bacillus necrodentalis Goadby, der sich besonders durch sein kulturelles Verhalten deutlich von dem Streptococcus lacticus unterscheidet, und mit dem Bacillus acidophilus identifiziert wird.

Zum Schluß meiner Arbeit ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Dr. Rosenthal für die freundliche Überlassung des Themas und die Anregung während meiner Tätigkeit, meinen gehorsamsten Dank auszusprechen.

---

*) Es ist allerdings auffallend, daß die Streptokokken des Zahnbelags und des kariösen Dentins im Gegensatz zu denen der Milch und der freien Mundhöhle nur spärlich bei Luftzutritt, um so reichlicher aber in Anaerobiose wachsen. Da diese Streptokokken verschiedener Herkunft sonst aber vollständig übereinstimmen, liegt kein Grund vor, sie allein wegen ihres Verhaltens zum Luftsauerstoff als verschiedene Arten zu betrachten. Vielmehr läßt sich dies Verhalten aus der Anpassungsfähigkeit an die jeweiligen Wachstumbedingungen erklären.

Tabelle.

Säurebildung von je 10 untersuchten Stämmen von Streptokokken aus Milch, Mundhöhle und cariösem Dentin aus 10 ccm 1%iger Traubenzuckerbouillon innerhalb von 8 Tagen.

	Milch n/10 Lauge	Mundhöhle n/10 Lauge	Zahn n/10 Lauge
1)	ccm 6,2	5,8	4,2
2)	6,5	6,2	5,3
3)	6,1	5,1	4,8
4)	**4,3**	**6,5**	5,1
5)	**6,8**	6	4,5
6)	6,5	5,9	5,5
7)	6,4	5,8	4,6
8)	5,2	6,2	**4,1**
9)	6,7	**4,5**	**5,6**
10)	6,3	6,5	5,3
Mittelwert	6,1	5,85	4,9
Grenzwerte	fett.		

Zu der Tabelle ist zu bemerken, daß die geprüften Stämme nicht gleichaltrig waren. Zuerst wurden die der Milch, dann die der Mundhöhle und erst mehrere Wochen später die der Zähne angelegt. Vielleicht ist hieraus der geringe Unterschied im Grad der Säurebildung zu erklären.